

Discussion. Dopa is probably taken up to a similar degree by the various brain areas. This may be concluded from the above results demonstrating that 5 min after i.v. injection of DL -2- ^{14}C -dopa the different brain parts show similar total radioactivity. Earlier findings, according to which catecholamines and phenolcarboxylic acids do not penetrate the blood/brain barrier in most regions^{6,7,9}, support this hypothesis.

The different intensity of radioactivity in the three fractions (amino acids, amines, phenolcarboxylic acids) as well as the different slope of the total radioactivity (Figure) show, however, that dopa is metabolized unequally in various brain areas. In the cerebellum and cerebrum the quotient amines/amino acids and phenolcarboxylic acids/amino acids is very low, indicating a minimal turnover. On the contrary, in caudate nucleus, di- and mesencephalon, these quotients are rather high, indicating extensive dopa decarboxylation (Table). This latter assumption is supported by the finding that in several species (cat, dog, pig) the activity of dopa-decarboxylase decreases in the order caudate nucleus > mesencephalon = diencephalon > medulla oblongata > cerebellum = cerebrum^{1,11,12}.

The metabolic pattern of the caudate nucleus seems to differ from that of the di- and mesencephalon, since in the former the amount of amines is higher than that of phenolcarboxylic acids, whereas in the di- and mesencephalon the phenolcarboxylic acids rather exceed the amines. In the caudate nucleus the newly formed amines might either be partly protected from further metabolic transformation (e.g. by storage) or the formation of the amines is possibly more rapid than their metabolism.

It may therefore be concluded that the variable distribution of catecholamines in the brain is rather due to a different metabolism of dopa in various brain areas than to differences in the uptake of dopa and catecholamines.

Zusammenfassung. In verschiedenen Hirnteilen des Kaninchens wurde nach i.v.-Injektion von DL -2- ^{14}C -3,4-Dihydroxyphenylalanin (^{14}C -Dopa) die Radioaktivität der Fraktionen der aromatischen Aminosäuren, der Amine und der Oxydationsprodukte (z.B. Phenolcarbonsäuren) bestimmt. Klein- und Grosshirn enthielten relativ viel ^{14}C -Aminosäuren (wahrscheinlich vorwiegend Dopa) und wenig ^{14}C -Amine und -Phenolcarbonsäuren. Im Mes- und Diencephalon waren relativ viel ^{14}C -Oxydationsprodukte nachweisbar, während der Nucleus caudatus den höchsten ^{14}C -Amingehalt aufwies. Diese Abweichungen sind wahrscheinlich durch einen unterschiedlichen Dopa-Stoffwechsel bedingt, da die Total-Radioaktivität der einzelnen Hirnregionen 5 min nach der Injektion von ^{14}C -Dopa keinen signifikanten Unterschied aufwies.

A. PLETSCHER and K. F. GEY

Medizinische Forschungsabteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co., A. G., Basel (Switzerland), August 10, 1962.

¹¹ D. F. BOGDANSKI, H. WEISSBACH, and S. UDENFRIEND, J. Neurochem. 1, 272 (1957).

¹² R. KUNTZMAN, P. A. SHORE, D. BOGDANSKI, and B. B. BRODIE, J. Neurochem. 6, 226 (1961).

Weitere Untersuchungen über die Wirksamkeit von Oxytryptaminderivaten im Strahlenschutzversuch

In vorangehenden Versuchen haben wir eine Reihe verschieden substituierter Oxytryptamine auf ihre Schutzwirkung gegenüber Röntgenstrahlen geprüft und dabei eine hohe Spezifität der Serotoninstruktur festgestellt¹. Immerhin erwiesen sich uns auch 5-Hydroxy- ω -N-monomethyl-tryptamin und besonders 5-Methoxy-tryptamin als wirksame Schutzstoffe. Die Ergebnisse einer ähnlichen Untersuchung von SUPEK, RANDIĆ und LOVAŠEN² an der Ratte stimmen mit den unsrigen, an Mäusen gewonnenen gut überein.

Aus der Beobachtung, dass ein Strahlenschutz durch verschiedene Oxytryptamine – ohne quantitative Parallelität zu ihren anderen pharmakologischen Eigenschaften – auch in sauerstoffunabhängigen Modellversuchen nachweisbar ist und andererseits *in vivo* durch kleine Konzentrationen eines Serotoninantagonisten aufgehoben werden kann, schlossen wir, dass weder indirekte physiologische Effekte (z. B. Vasokonstriktion) noch eine Neutralisierung freier Wasserradikale den strahlenbiologischen Wirkungsmechanismus des Serotonins und seiner Verwandten hinreichend erklären können³.

Es schien uns in der Folge nützlich zu prüfen, ob durch den Serotoninantagonisten Deseril (1-Methyl- D -Lysergäure-Butanolamid Sandoz) nicht auch andere Klassen von Schutzstoffen in ihrer Wirkung beeinträchtigt werden. Ferner haben wir sechs weitere Oxytryptaminderivate im Strahlenschutzversuch getestet.

Material und Methode. 1100, 10–12 Wochen alte, weibliche weisse Mäuse eines Inzuchtstammes des pharmakologischen Laboratoriums der Sandoz AG⁴ mit einem Durchschnittsgewicht von 17 g erhielten eine einmalige Ganzkörperbestrahlung von 600 (= $DL_{95,30}$) bzw. 750 r unter den folgenden Bedingungen: Röntgenapparat Siemens Stabilipan, 200 kV, 20 mA, 0,5 mm Cu-Filter, Abstand Fokus-Tier 50 cm, Feldgrösse 17×17 cm. Je 10 Tiere wurden zusammen in einem Kästchen mit Perspexdeckel und Seitenwänden von 4 cm Buchenholz bestrahlt. Die Dosisleistung in der Mitte des Käfigs betrug 112 r/min⁵.

Jeweils 0,2 ml der fraglichen Substanz wurde den Tieren in einem bestimmten zeitlichen Abstand vor der Bestrahlung intraperitoneal oder subkutan injiziert. Keines der Präparate erwies sich in den von uns verwendeten Dosen als toxisch. Alle Tiere erhielten überdies während der ersten 10 Tage nach der Bestrahlung 0,2 mg Reverin s.c./Tag, um unspezifische Infektionen zu verhindern. Die regelmässige Wartung der Tiere war garantiert. Als Kriterium der Schutzwirkung diente die mittlere

¹ P. DUKOR und R. SCHUPPLI, Exper. 17, 257 (1961).

² Z. SUPEK, M. RANDIĆ und Ž. LOVAŠEN, Int. J. Rad. Biol. 4, 111 (1961).

³ P. DUKOR, Strahlentherapie 117, 330 (1962).

⁴ Das Tiermaterial sowie alle Oxytryptaminverbindungen, über die hier berichtet wird, wurden uns freundlicherweise vom Pharmakologischen Laboratorium der Sandoz AG Basel zur Verfügung gestellt.

⁵ Die Bestrahlungen konnten dank dem Entgegenkommen von Herrn Prof. E. ZDANSKY im Basler Universitäts-Röntgeninstitut vorgenommen werden.

Tab. I

Vorbehandlung mit			Strahlendosis 600 r				Strahlendosis 750 r							
			t	N	x	s _x	P _c	N	x	s _x	P _c			
Cysteamin	150 mg/kg i.p.	5 min vor	20	19,8	1,5	0,001	n.s.	20	12,8	1,0	0,001	n.s.		
Cysteamin	150 mg/kg i.p.	5 min vor	34	19,4	1,6	0,001		29	15,4	1,4	0,001			
+ Deseril	10 mg/kg s.c.	30 min vor												
Tyramin	75 mg/kg i.p.	5 min vor	20	15,9	0,9	0,001	n.s.							
Tyramin	75 mg/kg i.p.	5 min vor	20	14,1	1,1	0,01								
+ Deseril	10 mg/kg s.c.	30 min vor												
Histamin dihl.	10 mg/kg i.p.	5 min vor	20	14,4	1,9	0,04	n.s.							
Histamin dihl.	10 mg/kg i.p.	5 min vor	20	15,2	1,6	0,01								
+ Deseril	10 mg/kg s.c.	30 min vor												
Noradrenalin	2,5 mg/kg i.p.	5 min vor	19	15,2	2,2	0,03	n.s.							
Noradrenalin	2,5 mg/kg i.p.	5 min vor	29	16,3	1,7	0,001								
+ Deseril	10 mg/kg s.c.	30 min vor												
Kontrollen														
0,9% NaCl	0,2 ml/20 g i.p.	5 min vor	60	10,1	0,7			80	7,5	0,4				

t = Zeitpunkt der Verabreichung; N = Zahl der verwendeten Tiere; x = mittlere Überlebenszeit in Tagen *post radiationem*; s_x = Standardabweichung des Mittelwerts; p_c = p-Wert gegenüber den Kontrollen mit 0,9% NaCl; n.s. = nicht signifikant.

Tab. II

			Strahlendosis 600 r				Strahlendosis 750 r			
Vorbehandlung mit		t	N	x	s _x	P _c	N	x	s _x	P _c
5-Hydroxy- ω -N-äthyl-tryptamin-Oxalat	32,2 mg/kg i.p.	5 min vor	20	17,1	1,4	0,001	20	13,9	2,4	0,01
		30 min vor	20	13,8	1,3	0,02	20	8,7	0,95	0,02
5-Hydroxy- β -methyl-tryptamin-Bioxalat	36,2 mg/kg i.p.	5 min vor	34	12,4	1,4	n.s.	20	8,9	1,3	n.s.
		30 min vor	34	11,7	0,8	n.s.	20	6,5	0,6	n.s.
5-Hydroxy- β -dimethyl-tryptamin-Bimaleinat	41,3 mg/kg i.p.	5 min vor	20	12,4	1,3	n.s.	20	7,5	0,5	n.s.
		30 min vor	20	12,4	1,1	n.s.	20	7,2	0,6	n.s.
5-Benzyl-tryptamin-Sulfat	40,7 mg/kg i.p.	5 min vor	20	13,8	1,6	0,04	20	10,5	1,2	0,01
		30 min vor	20	11,9	1,4	n.s.	20	5,7	0,6	n.s.
6-Hydroxy-tryptamin-Kreatininsulfat	50,0 mg/kg i.p.	5 min vor	20	13,6	1,7	n.s.	20	7,6	0,4	n.s.
		30 min vor	20	11,3	1,0	n.s.	20	5,4	0,5	n.s.
7-Hydroxy-tryptamin-Oxalat	28,6 mg/kg i.p.	5 min vor	20	11,6	1,3	n.s.	20	7,3	0,5	n.s.
		30 min vor	20	11,6	1,6	n.s.	20	8,3	1,3	n.s.
Kontrollen										
5-Hydroxy-tryptamin-Kreatininsulfat	50,0 mg/kg i.p.	5 min vor	20	21,5	1,6	0,001	19	13,3	2,1	0,001
		30 min vor	20	16,6	2,1	0,01	20	9,6	1,3	n.s.
5-Methoxy-tryptamin (Base)	24,5 mg/kg i.p.	5 min vor	20	17,5	1,9	0,001	20	14,8	1,3	0,001
		30 min vor	20	14,1	2,1	n.s.	20	12,9	1,2	0,001
0,9% NaCl	0,2 ml/20 g i.p.	5 min vor	60	10,1	0,7		80	7,5	0,4	

Bezeichnungen wie in Tabelle I

Überlebenszeit *post radiationem*. Die statistische Sicherung erfolgte mit dem *t*-Test, wobei wir für die den 30. Tag Überlebenden willkürlich eine Überlebenszeit von 30 Tagen einsetzten.

Die Ergebnisse der Kombination von Cysteamin, Tyramin, Histamin und Noradrenalin mit Deseril sind in Tabelle I dargestellt. Sie stützen unsere Annahme, dass sich die Aufhebung der Schutzwirkung durch Deseril³ auf die Klasse der Tryptamine beschränkt. Wir haben früher ausführlich dargelegt, warum wir einen *ausschliesslich* indirekten, pharmakologischen Wirkungsmechanismus des Serotonins im Strahlenschutzversuch für unwahrscheinlich halten³, obwohl dies durch gewisse Experimente belegt zu sein scheint (VAN DER MEER und VAN BEKKUM⁶; VAN DEN BRENK und HAAS⁷). Die selektive – auf diese Stoffgruppe beschränkte – Antagonisierung der radio-

protektiven Wirksamkeit der Oxytryptamine durch Serotoninantagonisten lässt sich nicht nur als pharmakologischer Vorgang (Aufhebung der Hypoxiewirkung), sondern auch einfach als Verdrängung der spezifisch gebauten Schutzmoleküle von Rezeptorstrukturen strahlenempfindlicher Zellbestandteile verstehen.

Die Resultate der Prüfung neuer Serotoninderivate zeigt Tabelle II. Fasst man diese Befunde mit denen unserer früheren Untersuchung¹ zusammen, so ergibt sich summarisch folgendes:

⁶ C. VAN DER MEER und D. W. VAN BEKKUM, Int. J. Rad. Biol. 1, 5 (1959).

⁷ H. A. S. VAN DEN BRENK und MAGDA HAAS, Int. J. Rad. Biol. 3, 73 (1961).

(a) Einen erheblichen Strahlenschutz bewirken: 5-Hydroxy-tryptamin, 5-Hydroxy- ω -N-monomethyl-tryptamin, 5-Hydroxy- ω -N-monoäthyl-tryptamin, 5-Methoxy-tryptamin. Zwischen dem Ausmass des Schutzeffektes dieser Verbindungen bestehen keine statistisch gesicherten Unterschiede.

(b) Zu einer nur geringen, aber statistisch signifikanten Verlängerung der mittleren Überlebenszeit führen: 5-Benzoyloxy-tryptamin, 4-Hydroxy-tryptamin.

(c) Unregelmässige oder gar keine Schutzwirkung besitzen: 5-Hydroxy- ω -N-acetyl-tryptamin, 5-Hydroxy- ω -N,N-dimethyl-tryptamin, 5-Hydroxy- β -methyl-tryptamin, 5-Hydroxy- β -dimethyl-tryptamin, 1-Methyl-5-hydroxy-tryptamin, 4-Hydroxy- ω -N-monomethyl-tryptamin, 4-Hydroxy- ω -N,N-dimethyltryptamin, 4-Hydroxy- α -methyl-tryptamin, 6-Hydroxy-tryptamin, 7-Hydroxy-tryptamin.

Die noch reaktionsfähige endständige Stickstoffgruppe, die freie Seitenkette und der integrale Indolring einerseits sowie eine – kurzgliedrige – Substitution in Stellung 5 andererseits scheinen Voraussetzung für die gute protektive Wirksamkeit dieser Stoffgruppe zu sein. Diese Befunde stimmen gut mit der Annahme überein, dass bestimmte sterische Bedingungen (GREENBERG⁸) für die An-

lagerung des schützenden Oxytryptamins an das strahlensensible Makromolekül erfüllt sein müssen. An der Strahlenschutzwirkung der Serotoninabkömmlinge könnten demgemäss recht wohl die von FLEMMING⁹ in Betracht gezogenen Energiewanderungs- und -verteilungsvorgänge beteiligt sein, die durch die π -Elektronen ihrer aromatischen Struktur ermöglicht werden.

Summary. The radioprotective action of some further oxytryptamines is investigated and the structure-activity relationship discussed. Deseril which neutralizes the protective effect of oxytryptamines, does not impair the radioprotective properties of cysteamine, tyramine, histamine or noradrenaline.

P. DUKOR

Dermatologische Universitätsklinik, Basel (Schweiz), 21. August 1962.

⁸ M. J. GREENBERG, Brit. J. Pharmacol. **15**, 375 (1960).

⁹ K. FLEMMING, Strahlentherapie **117**, 616 (1962).

Studies on the Virus Neutralizing Capacity of Anacid Gastric Juices

It was found previously that the gastric juices of achlorhydric subjects agglutinate red cells sensitized with coli antigen¹. The agglutinating titer of the investigated gastric juices depends primarily on the homologous antibody level of the serum. On the basis of the above results, the question arose whether the gastric juice of achlorhydric contains substances possessing a virus-neutralizing effect or not.

The neutralization tests were carried out against the three types of polio-viruses (Mahoney, MEF₁, Saukett) on HeLa tissue culture with sera, saliva and gastric juices, collected simultaneously from the same achlorhydric. A volume of 0.1 ml of the samples was incubated with the same volume of virus at 37°C for 4 h and kept overnight in the refrigerator. The neutralizing effect of the sera were tested against 100 CTP₅₀ and in the case of gastric juices and saliva against 10 CTP₅₀ pro 0.1 ml. The tests were evaluated on the third and seventh days.

The results obtained are shown in the Table. It can be seen that the achlorhydric gastric juices and the saliva possess a capacity to neutralize the cytopathogenic effect of poliomyelitis viruses. The presence and the degree of this capacity, however, depends at least to a certain extent on the homologous virus-neutralizing antibody level of the sera. If no virus-neutralizing antibodies were present in the sera, the gastric juices could not neutralize the cytopathogenic effect of the viruses. After vaccination with the polio-virus, an elevation of the homologous antibody titer of the sera was observed which ran parallel with the elevation of the neutralizing capacity of the gastric juices.

In the concentrated gastric juice of achlorhydric, immune-globulins could be detected with paper-electrophoresis. The Figure represents the electrophoretic pattern of the concentrated gastric juices of an achlorhydric patient. The concentration procedure was carried out according to ISHIMORI and GLASS².

On the basis of the above results, it can be supposed that the virus neutralization in the achlorhydric gastric juices is caused by virus-neutralizing antibodies.

This virus-neutralizing capacity of the gastric juices may contribute to the defence mechanism of the achlorhydric subjects against enteropathogenic virus infection. The lack of the acid-producing ability renders possible the appearance and the action of the immunologically active substances in the stomach. Our results suggest further the importance of the local antibodies of the gastrointestinal tract in enteropathogenic virus infections, as well as in the case of Sabin vaccination³.

Gastric juices contaminated with blood or bile were discarded. The data represent the highest neutralizing dilutions of the samples. Not examined: —. The pH values of the achlorhydric gastric juices tested are between 6.2 and 7.8

No.	Virus neutralizing titer								
	Sera	Gastric juices		Saliva					
	Ma-honey	MEF ₁	Saukett	Ma-honey	MEF ₁	Saukett	Ma-honey	MEF ₁	Saukett
1	32	64	4	2	2	2	0	2	0
2	—	—	—	0	0	0	0	0	0
3	16	64	8	0	0	0	—	—	—
4	32	16	16	0	0	2	0	8	0
5	—	—	—	0	2	0	0	2	0
6	128	4	4	16	0	0	32	0	0
7	64	0	2	16	0	0	8	0	0
8	16	8	128	0	0	2	—	—	—
9	256	32	16	2	2	4	2	4	2
10	—	—	—	8	0	4	—	—	—
11	8	0	0	8	0	0	—	—	—
12	—	—	—	16	16	0	—	—	—
13	64	16	16	16	0	4	4	0	0
14	256	16	16	64	4	0	4	4	0

¹ V. BALÁZS, Exper. **18**, 72 (1962).

² A. ISHIMORI and G. B. J. GLASS, Clin. Chem. **7**, 457 (1961).

³ Our thanks are due to Dr. K. BOLDIZS and É. ÁGOSTON for their valuable help.